

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

Red pigment and process

Patent
Number: ☐ US3993789

Publication
date: 1976-11-23

Inventor(s): MOLL HANS RUDOLF; FARR DAVID ROBERT

Applicant(s):: NESTLE SA

Requested
Patent: ☐ FR2290477

Application
Number: US19750623054 19751016

Priority Number
(s): CH19740014887 19741107

IPC
Classification: A23L1/27 ; A23L1/275

EC
Classification: A23L1/275D, C09B57/00, A23J3/22C2

Equivalents: AU8581275, ☐ BE834440, BR7507315, CA1029720, ☐ CH606433, ☐ DE2461642,
☐ ES442382, ☐ GB1469893, IN141902, IT1043699, ☐ JP51070226, JP52032965B,
NL174475B, ☐ NL174475C, ☐ NL7512649, ☐ SE412592, SE7511794, SU584799,
ZA7506525

Abstract

A red colorant having the general formula +q,10 IN WHICH R represents an aliphatic radical, and R' represents the radical of a compound of the formula H₂N-R', which compound is an amino sugar, a polymer of an amino sugar, a polyamino acid or an amino alcohol.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

A1

DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION

(21)

N° 75 31846

2 4 RHB 477

(54) Colorant rouge et son procédé de préparation.

(51) Classification internationale (Int. Cl.²). C 09 B 61/00.

(22) Date de dépôt 17 octobre 1975, à 15 h 35 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demande de brevet déposée en Suisse le 7 novembre 1974, n. 14.887/74*
au nom de la demanderesse.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 23 du 4-6-1976.

(71) Déposant : Société dite : SOCIETE DES PRODUITS NESTLE S.A., résidant en Suisse.

(72) Invention de : Hans Rudolf Moll et David Robert Farr.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Simonnot, Rinuy, Santarelli.

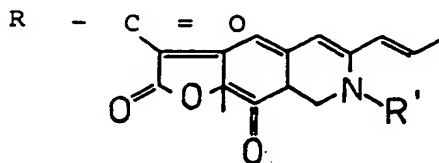
La présente invention a pour objet un colorant rouge et son procédé de préparation à partir d'un pigment d'un microorganisme du genre *Monascus*.

Il est bien connu que des microorganismes du genre *Monascus*, tels que le *M. purpureus*, le *M. rubropunctatus*, le *M. rubiginosus* ou le *M. rubra* par exemple, produisent des pigments jaunes, oranges ou rouges dans un milieu de culture. La structure d'au moins trois pigments d'espèces de *Monascus* ont été décrites, à savoir la rubropunctatine, la monascorubrine et la monascoflavine. Il est également connu qu'un pigment d'une espèce de *Monascus* n'est guère soluble dans l'eau mais que vu qu'il présente la propriété de se fixer aux protéines, il est possible de préparer un pigment soluble par liaison à une protéine, un acide aminé ou un peptide solubles. Or la fixation à une protéine est indéfinie en ce sens qu'on ne sait pas sur quel acide aminé le pigment se fixe et quelles sont les propriétés du complexe pigment-acide aminé inconnu.

Dans la recherche de colorants utilisables dans l'industrie alimentaire il importe de savoir exactement à quoi l'on a à faire afin de pouvoir examiner avec succès la question de la tolérance par l'organisme humain.

La présente invention a pour origine le souci de proposer un colorant rouge de structure déterminée et tout particulièrement un colorant dont on puisse prévoir la bonne tolérance par l'organisme humain.

Le colorant selon l'invention est caractérisé par le fait qu'il présente la structure

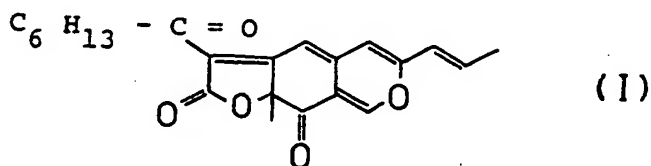


où R est un reste aliphatique et R' représente le reste d'un composé de formule H_2N-R' choisi dans un groupe comprenant les sucres aminés, les polymères de sucres aminés, les acides polyaminés et les alcools aminés.

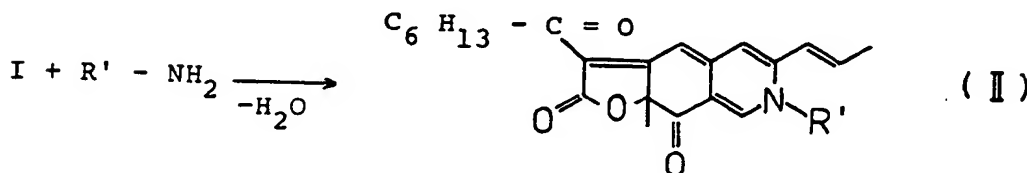
Le procédé selon l'invention est caractérisé par le fait

que l'on fait réagir un pigment jaune orange de *Monascus* avec une substance réactive choisie dans un groupe comprenant les sucres aminés, les polymères de sucres aminés, les acides polyaminés et les alcools aminés, pour obtenir un composé chimique de coloration rouge.

On a constaté en effet que, premièrement le pigment, isolé de *Monascus rubiginosus*, qui se lie au support avec lequel la réaction a lieu, présente avant la réaction une coloration jaune orange et la structure



- deuxièmement la réaction a lieu avec un groupe aminé libre du support selon le schéma



- troisièmement la réaction n'a lieu qu'avec un groupe aminé libre primaire du type aliphatique qui n'est pas susceptible d'entrer en mésomérie, comme l'indiquent par exemple les résultats négatifs d'essais de réactions tentés avec des bases puriques et pyrimidiques, des nucléotides, des nucléosides, le RNA, le DNA, des sucres aminés acétylés, l'urée et la chitine.

Le pigment jaune orange peut être obtenu par exemple sous forme cristalline pure en soumettant un mycelium de *Monascus rubiginosus* à une extraction au chlorure de méthylène, en filtrant l'extrait concentré sur une colonne de gel de silice avec du chloroforme comme véhicule, et en concentrant et cristallisant de l'éthanol la fraction de chloroforme qui contient le pigment.

La réaction peut être conduite par exemple en ajoutant à dix parties d'une solution ou suspension aqueuse à quelques pour cent du support choisi une partie d'éthanol contenant en solution quelques pour mille de pigment ^{jaune} orange. La réaction s'accompagne

d'un déplacement notable vers le rouge de la bande d'absorption UV de plus grande longueur d'onde qui fait apparaître le pigment franchement rouge. Le mélange tourne au rouge foncé en moins d'une heure. La réaction peut être facilement suivie par chromatographie sur couche mince en usant comme véhicule un mélange chloroforme/méthanol/acide acétique dans un rapport 93:7:5. Le point jaune orange migrera avec une valeur de R_f de environ 0,9 alors que le composé rouge pourra présenter une valeur de R_f inférieure à 0,5.

La solubilité du colorant dépend de la nature plus ou moins hydrophile du reste R' de la formule II.

Une forme préférée du colorant selon l'invention est celle où R' représente le reste du chitosane, si l'on exprime ce dernier par la formule H_2N-R' . Il y a en effet de sérieux avantages à utiliser le chitosane comme substance réactive, autrement dit comme support dudit pigment de *Monascus*. Un premier avantage est que le chitosane ne semble pas être métabolisé par l'organisme humain. Un tel colorant passerait tout le tube digestif sans subir aucune modification et ne pourrait donc pas présenter de risque de toxicité. Un autre avantage est que le chitosane tel quel ou sous forme acétylée, en tant que chitine, est abondant dans la nature, que ce soit dans le squelette d'animaux, dans les carapaces de homard par exemple, ou dans les parois cellulaires d'algues vertes ou de champignons.

Les exemples 1-5 sont donnés à titre d'illustration de l'objet de l'invention.

Exemple 1

On dissout 20 g de chitosane technique en flocons dans un litre d'acide acétique à 10% et on laisse reposer pendant 12 heures à température ambiante. On centrifuge la solution obtenue pour éliminer les fragments non dissouts. On reprécipite le chitosane sous forme finement divisée en le forçant à travers une buse de 2 mm de diamètre débouchant dans un volume de trois litres d'une solution alcaline à pH 11. On maintient le pH à 11 par addition de NaOH à 40%.

On centrifuge le volumineux précipité et on le lave trois fois à l'eau distillée. On le met en suspension dans un litre

d'eau distillée. On y ajoute 200 mg de pigment jaune orange de *Monascus* dissout dans 100 ml d'éthanol. La suspension blanche de chitosane passe au rouge sombre en l'espace de quelque 30 mn. On agite le mélange durant plusieurs heures, on le centrifuge, on le lave à l'eau distillée. On en conserve une partie en suspension dans l'eau. On sèche l'autre à l'alcool.

Exemple 2

On suspend 31 g de chitosane dans 2 litres d'eau distillée. On prépare une solution saturée de 500 mg de pigment jaune orange de *Monascus* dans l'éthanol. On ajoute goutte-à-goutte, et en remuant, la solution de pigment dans la suspension de chitosane. La suspension tourne lentement au rouge sombre. Le pigment est entièrement lié par le chitosane, donc dans une proportion de 1,6% en poids. On lave le produit de réaction trois fois à l'eau distillée en s'aidant de la centrifugation. On lyophilise une partie de ce chitosane rouge. On examine les parties lyophilisées et non lyophilisées à l'aide d'un colorimètre "colormaster". On met le résultat des mesures sous forme quantitative en consultant les tables de la Commission Internationale de l'Illumination (ICI) et l'on obtient les valeurs suivantes :

| | luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] | |
|----|--|--------------------------------------|---------------|------|
| 25 | | | | |
| | Chitosane rouge, sec (lyophilisé) | 8,45 | 592,3 | 42,2 |
| 30 | Chitosane rouge, humide (non-lyophilisé) | 0,70 | 606 | 70 |

Exemple 3

On dissout 500 mg (1,31 mmoles) de monascorubrine dans 100 ml d'éthanol et l'on ajoute 83 µl (1,38 mmoles) d'éthanolamine. On laisse reposer plusieurs heures à température ambiante et à l'abri de l'air et de la lumière. On évapore le solvant sous vide et l'on sèche sur acide sulfurique dans un dessiccateur. On obtient 588 mg d'un cristallisé rouge très foncé. On le

purifie par recristallisation dans un milieu composé d'éthanol et d'eau.

Exemple 4

5 On agite à température ambiante, à l'abri de l'air et de la lumière, 500 mg (1,31 mmoles) de monascorubrine, 285 mg (1,32 mmoles) de chlorhydrate de glucosamine et 25 mg (environ 3 mmoles) de bicarbonate de soude dans un mélange de 50 ml d'éthanol et de 50 ml d'eau. L'évolution de la réaction se
10 manifeste par une coloration rouge devenant de plus en plus foncée. Après 10 heures, toute évolution a cessé, on n'observe plus de spot correspondant à la monascorubrine lors d'une chromatographie sur couche mince. On élimine alors le solvant par évaporation sous vide. On obtient un résidu rouge très foncé qui
15 est insoluble dans l'éther ou le chloroforme mais soluble dans l'éthanol et dans l'eau.

Exemple 5

On prépare un colorant comme décrit à l'exemple 4 à cette exception près que, en lieu et place du chlorhydrate de glucosamine on utilise 285 mg (1,32 mmoles) de chlorhydrate de
20 galactosamine. Le colorant obtenu présente les mêmes propriétés que celui de l'exemple 4.

Les exemples 6-10 suivants sont donnés à titre d'illustration de l'usage et des avantages du colorant selon l'invention.
25

Exemple 6

Pour préparer un substitut bien coloré de la viande on mélange à sec durant 30 mn 190 g de farine de soja dégraissée et 10 g de chitosane rouge sec obtenu de la manière décrite à
30 l'exemple 2. On ajoute 28% en poids d'eau à ce mélange. On soumet le mélange humidifié à un traitement de cuisson extrusion sous une pression de 25 kg/cm² et à une température qui atteint 162,5°C au centre de l'extrudeuse.

Le produit poreux expansé, donc texturé, obtenu à la sortie
35 de l'extrudeuse présente une belle couleur rouge semblable à celle de la viande. Ses caractéristiques, déterminées comme décrit à l'exemple 2 sont :

| luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] |
|-------------------|--------------------------------------|---------------|
| 8,99 | 590 | 38 |

Exemple 7

On prépare un substitut bien coloré de la viande de la manière décrite à l'exemple 6, à cette exception près que l'on utilise 10 g de chitosane rouge humide obtenu de la manière décrite à l'exemple 2 en lieu et place du chitosane rouge sec. Le produit obtenu présente des qualités de couleur analogues à celles du produit décrit à l'exemple 6. On détermine ces caractéristiques comme ci-dessus et l'on obtient :

| luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] |
|-------------------|--------------------------------------|---------------|
| 4,28 | 592 | 41,8 |

Exemple 8

On colore des yoghourts naturels du commerce en y mélangeant du colorant rouge sec obtenu de la manière décrite à l'exemple 2, autrement dit du chitosane rouge sec contenant 1,6% de pigment. On effectue trois essais parallèles à différentes concentrations de colorant dans le yoghourt, à savoir 0,2, 0,5 et 1% en poids. On compare les produits obtenus à des produits naturels du commerce, yoghourts fraise et framboise. C'est le yoghourt à 0,5% de colorant qui présente la couleur la plus proche de celle présentée par les produits naturels. Celui à 0,2% paraît pâle, celui à 1% paraît sombre. La couleur du yoghourt à 0,5% de chitosane rouge paraît plus naturelle que celle d'un yoghourt teinté avec un colorant rouge usuel.

Un examen colorimétrique mené de la manière décrite à l'exemple 2 donne les résultats suivants :

| Type de yoghourt | luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] |
|--|-------------------|--------------------------------------|---------------|
| nature | 71,2 | 573 | 11,6 |
| framboise | 49,4 | 610 | 6,3 |
| fraise | 48,6 | 593 | 13,0 |
| nature + chi- tosane rouge à raison de | | | |
| 0,2% | 50,6 | 594 | 14,4 |
| 0,5% | 40,6 | 598 | 20,0 |
| 1 % | 32,6 | 600 | 26,5 |

Exemple 9

Pour préparer un apéritif de belle coloration rouge à partir d'un vermouth blanc, on y incorpore du colorant rouge obtenu de la manière décrite à l'exemple 3, autrement dit de la N-(β -hydroxyéthyle)-monascamine ou éthanolamine rouge, soluble dans l'alcool. On dissout au préalable les cristaux de colorant dans une petite quantité d'alcool éthylique. On ajoute différentes quantités de cette solution concentrée à des quantités égales de vermouth blanc, de façon à obtenir différentes concentrations, comprises entre environ 10^{-3} et 10^{-2} % en poids, de colorant dans l'apéritif. Les échantillons sont examinés à l'aide du colorimètre "colormaster" et des tables de l'ICI et l'on obtient les résultats suivants :

| | concentration mg éthanolamine rouge par 100 ml de vermouth blanc | luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] |
|----|---|-------------------|--------------------------------------|---------------|
| 5 | 0 | 100 | 576,5 | 2,3 |
| | 1 | 71,8 | 574,5 | 40,2 |
| | 2 | 56,6 | 594,5 | 41,5 |
| | 4 | 38,5 | 596,4 | 70,0 |
| | 6 | 28,3 | 598,8 | 87,0 |
| 10 | 10 | 21,9 | 601,8 | 95 |

Exemple 10

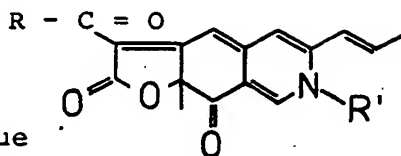
15 Pour préparer un apéritif sans alcool de couleur rouge
avenante, on incorpore à une eau minérale gazeuse naturelle du
colorant rouge obtenu de la manière décrite à l'exemple 5,
autrement dit de la N-(2-galactosyl)-monascamine ou galactosamine
rouge. On ajoute ce colorant à l'eau en remuant quelques se-
20 condes à température ambiante. On obtient des résultats inté-
ressants avec des concentrations de colorant dans l'eau gazeuse
de l'ordre de quelques pour mille en poids. Les caractéristiques
de quelques échantillons, déterminées comme ci-dessus, sont les
suivantes :

| | concentration mg galactosamine rouge par 100 ml d'eau gazeuse | luminosité [%] | longueur d'onde dominante [nm] | pureté [%] |
|----|--|-------------------|--------------------------------------|---------------|
| 25 | 100 | 87,7 | 586 | 5 |
| | 150 | 79,6 | 586,1 | 8,5 |
| | 200 | 71,9 | 587,7 | 12,6 |
| 30 | 300 | 54,5 | 590 | 22,7 |

Revendications

1. Colorant rouge, caractérisé par le fait qu'il présente la structure

5



où R est un reste aliphatique

10 et R' représente le reste d'un composé de formule H_2N-R' choisi dans un groupe comprenant les sucres aminés, les polymères de sucres aminés, les acides polyaminés et les alcools aminés.

2. Colorant rouge selon la revendication 1, caractérisé par le fait que R' représente le reste du chitosane exprimé par
15 la formule H_2N-R' .

3. Colorant rouge selon la revendication 1, caractérisé par le fait que R' représente le reste de l'éthanolamine exprimée par la formule H_2N-R' .

4. Colorant rouge selon la revendication 1, caractérisé par le fait que R' représente le reste d'une hexosamine exprimée par la formule H_2N-R' .

5. Procédé de préparation d'un colorant selon la revendication 1, à partir d'un pigment d'un microorganisme du genre *Monascus*, caractérisé par le fait que l'on fait réagir un pigment
20 jaune orange de *Monascus* avec une substance réactive choisie dans un groupe comprenant les sucres aminés, les polymères de sucres aminés, les acides polyaminés et les alcools aminés, pour obtenir un composé chimique de coloration rouge.

6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé par le fait que la substance réactive est le chitosane.
25

7. Procédé selon la revendication 5, caractérisé par le fait que la substance réactive est l'éthanolamine.

8. Procédé selon la revendication 5, caractérisé par le fait que la substance réactive est une hexosamine.